

**DER LINOLSÄUREGEHALT IN DEN  
CHOLESTERINESTERN DES SERUMS BEI  
UNTERSCHIEDLICHER LINOLSÄUREZUFUHR  
MIT EINER KOHLENHYDRATREICHEN  
FORMELDIÄT**

Dieter Kröll

1976





Digitized by the Internet Archive  
in 2026



Aus der medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Prof. Dr. N. Zöllner

DER LINOLSÄUREGEHALT IN DEN CHOLESTERINESTERN DES SERUMS  
BEI UNTERSCHIEDLICHER LINOLSÄUREZUFUHR MIT EINER KOHLEN-  
HYDRATREICHEN FORMELDIÄT

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde  
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von  
Dieter Kröll

aus  
München

1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: PD Dr. G. Wolfram

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13. 7. 1976



## INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                | Seite   |
|----------------------------------------------------------------|---------|
| A. EINLEITUNG                                                  | 1       |
| B. METHODIK                                                    | 5       |
| 1. Versuchspersonen                                            | 5       |
| 2. Formeldiät                                                  | 5       |
| 3. Blutentnahme                                                | 6       |
| 4. Lipoidextraktion aus dem Blutserum                          | 6       |
| 5. Vorbereitungen zur Gaschromatographie                       | 6       |
| 6. Gaschromatographische Analyse der Fettsäure-<br>methylester | 10      |
| 7. Auswertung der Chromatogramme                               | 11      |
| C. ERGEBNISSE                                                  | 13      |
| 1. Linolsäure                                                  | 13      |
| 2. Arachidonsäure                                              | 14      |
| D. DISKUSSION                                                  | 15      |
| E. ZUSAMMENFASSUNG                                             | 17      |
| F. LITERATURVERZEICHNIS                                        | 18      |
| ANHANG - Tab. 1 - 7                                            | 21 - 26 |
| ABBILDUNGEN (2 - 11)                                           |         |
| LEBENSLAUF                                                     |         |



## A. EINLEITUNG

In den letzten Jahren ist eine starke Zunahme an Gefäß- und Stoffwechselkrankheiten zu verzeichnen. Eine der Hauptursachen ist in einer fehlerhaften Ernährung, besonders mit übercalorischer und fettreicher Kost, zu suchen. Entgleisungen des Fettstoffwechsels in Form einer Erhöhung des Blutfettspiegels sind unbedingt zu vermeiden. Die Kohlenhydrate liefern sowohl Energie als auch Baustoffe für den Körper. In Extremfällen können Kohlenhydrate und Eiweiß sogar Fett als den Hauptenergieträger ersetzen. Die Nahrung muß aber immer noch einen gewissen Anteil an essentiellen Fettsäuren z. B. Linolsäure aufweisen, da es sonst zu Mangelercheinungen kommt.

Die ersten Versuche in dieser Richtung gehen auf Burr und Burr 1929/30 zurück (1). Sie konnten durch fettfreie Ernährung ein Mangelsyndrom bei Ratten erzeugen. Die Ausfallserscheinungen, die von einer Dermatose mit Schuppung, Schwanznekrose und Haarausfall bis zu Nierenveränderungen und Wachstums- und Fertilitätsstörungen reichen, wurden auch bei anderen Tierarten durch Mangel an essentiellen Fettsäuren ausgelöst (2).

Am Menschen sind bis jetzt verhältnismäßig wenig exakte Ergebnisse aus Versuchen gewonnen worden, zumal man sich fast immer auf die Erzeugung von Mangelercheinungen konzentrierte. Selbst nach längerer fettarmer Ernährung konnten keine solchen beobachtet werden. Holman gibt als Begründung an, daß das Linolsäuredepot beim Menschen mit 500 g zu groß sei, um mit üblichen Ernährungsversuchen Mangelsyndrome erzeugen zu können (3).

1968 berichten Collins und Maynard (4) über einen Patienten in Melbourne, der nach einer Dünndarm-Resektion 7 1/2 Monate parenteral, zunächst für 100 Tage, ohne Fett ernährt worden ist. Es entwickelte sich ein Linolsäuremangelzustand mit Beeinträchtigung der Erythropoese und Ausbildung von erhabenen, schuppigen Hautveränderungen. Tägliche Zufuhr von 45 g Linolsäure in Form normaler Fettemulsion über 12 Tage hinweg, führte zu einer Normalisierung der Serumfettspiegel und zum Verschwinden der Hautveränderungen. Tägliche Gaben von 7,5 g reichten nicht aus. Es ließ sich errechnen,

nen, daß mehr als 2,2 % (bis zu 4 %) der Gesamtkalorieneinnahme des erwachsenen Menschen in Form von Linolsäure zu dessen Bedarfsdeckung notwendig sind.

In diesem Bereich bewegen sich auch die Ergebnisse der Untersuchungen von Wolfram anhand diätetischer Versuche an Gesunden (5).

Hansen und Wiese (6) beschreiben 1958 die Symptome eines Mangels an essentiellen Fettsäuren zum ersten Mal bei Säuglingen, nach Verabreichung einer linolsäurefreien Diät. Sie wiesen nach, daß im Neugeborenen Serum eine andere Fettsäurezusammensetzung vorliegt, als im Erwachsenen Serum. Außerdem leidet das Neugeborene an einem Mangel an essentiellen Fettsäuren, da langkettige Fettsäuren die Plazenta-Schranke offensichtlich nicht passieren können (7, 8). Zöllner und Wolfram (7) konnten ebenso nachweisen, daß im Nabelschnurblut der Anteil der Linolsäure in den Fettsäuren der Serumlipide nur halb so groß ist, wie beim Erwachsenen.

Darüber hinaus besteht beim Neugeborenen ein geringerer Vorrat an Linolsäure im Depotfett (9, 10).

Hagermann und Villet (11) wiesen einen bevorzugten diaplacentären Transport von Kohlenhydraten nach, woraus man auf eine einseitige Energieversorgung des fetalen Stoffwechsels durch Kohlenhydrate schließen kann.

Hirsch und Goldrick (12) geben auf Grund zahlreicher Befunde an, daß es zu einem direkten oxydativen Abbau der Glucose über Pentosephosphat kommt und damit genügend Voraussetzungen geschaffen würden für die Synthese von gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren.

Klenk (13) konnte im tierischen Organismus die Synthese von Polyensäuren mit 4 oder mehr Doppelbindungen im Divinylmethan-Rhythmus aus Linolsäure nachweisen (durch Kettenverlängerung und Anlagerung von Doppelbindungen). Leupold und Kremer (14) vermochten beim Menschen eine derartige Synthese im Vollblut und in der Leber nachzuweisen.

Alle diese Untersuchungen führten dazu, daß man die Linolsäure als

einen essentiellen Nahrungsbestandteil anerkannte und sie als essentielle Fettsäure bezeichnete.

Die Linolsäure ist der Prototyp einer mehrfach ungesättigten Fettsäure. Abkömmlinge sind die Arachidonsäure und die  $\gamma$ -Linolensäure. Chemisch auffallend ist, daß die Doppelbindung jeweils durch zwei C-C-Bindungen "isoliert" ist. Die Fettsäuren bestehen aus einer geradzahligen Kohlenstoffkette, cis-Konfiguration und Doppelbindungen im Divinylmethan-Rhythmus, von denen die erste am sechsten C-Atom vom  $\text{CH}_3$ -Ende her gerechnet, lokalisiert ist (15, 16).

Die essentiellen, ebenso wie die nichtessentiellen hochungesättigten Fettsäuren sind nach Holman (17) für den Transport und Umsatz der aufgenommenen Nahrungsfette, sowie für die Löslichkeit der Lipide im Serum verantwortlich. Der gleiche Autor beschreibt aber auch, daß umgekehrt bei vermehrter Aufnahme an gesättigten Fettsäuren ein höherer Bedarf an Linolsäure bestehen soll (18). Daraus kann man schließen, daß der Linolsäurebedarf auch von der Art der Ernährung abhängig ist.

Die ersten Versuche, um die Notwendigkeit von essentiellen Fettsäuren für den menschlichen Organismus nachzuweisen, unternahm Gröer (19) 1919, also bereits 10 Jahre vor Burr and Burr mit ihren Rattenversuchen. 1958 beschrieben Wiese und Hansen (9) klinische Symptome einer Mangelerkrankung auf Grund von fehlenden essentiellen Fettsäuren bei Säuglingen. Andere Autoren wie Hirsch (20), Ahrens und Spitz (21), Fairhurst und Waterhouse (22) sowie MacDonald und Braithwaite (23) stellten, parallel zu den gewonnenen Erkenntnissen bei Säuglingen, Ernährungsversuche mit stoffwechselgesunden Erwachsenen an. Durch kohlenhydratreiche Ernährung konnten sie alle eine veränderte Plasmalipoidkonzentration erreichen. Auch die Verteilung der darin enthaltenen Fettsäuren wurde geändert.

In letzter Zeit beschäftigen sich vor allem Zöllner und Wolfram eingehender mit dem Problemkreis Linolsäure. Während sie sich in ihrem ersten Versuch von 1966 noch keiner reinen Formeldiät bedienen (24), werden die folgenden unter exakteren Bedingungen durchgeführt. Es stellt sich die Frage nach dem tatsächlichen Tagesbedarf eines erwachsenen Menschen an Linolsäure. Zöllner und Wolfram

geben den Bedarf des Erwachsenen, gemessen am Linolsäurespiegel in den Cholesterinestern des Serums, mit im Durchschnitt 7 g oder 2,3 % der Kalorien pro Tag an (25). Andere Autoren machen Angaben, die zwischen 5 g und 20 g Linolsäure am Tag, schwanken (26, 27, 28, 29).

Es ging jetzt darum, diese Angaben zu überprüfen und auf eventuelle Unterschiede zwischen dem Linolsäurebedarf bei einer fettreichen oder einer fettarmen Kost zu achten.

## B. METHODIK

### 1. Versuchspersonen

Teilnehmer waren sechs klinisch und anamnestisch gesunde Personen. Eine vorausgehende Untersuchung sollte die normalen Cholesterin- und Triglyceridwerte der Versuchspersonen bestätigen, um eine definierte Versuchsausgangsbasis zu gewährleisten.

Tab. 1: Angaben zu den Versuchspersonen.

### 2. Formeldiät

Die alleinige Ernährung mit Formeldiät setzte sich aus 80 % Kohlenhydrate, 15 % Eiweiß, 5 % Fett und geringe Mengen von Mineralsalzen zusammen. Sie wurde täglich mit Wasser zubereitet und an die Versuchspersonen in drei gleiche Rationen entsprechend den Essenszeiten verteilt. Vitamine wurden in Form von einer Kapsel Multibionta<sup>(R)</sup> pro Tag zugeführt. Die Zusammensetzung der Diät wurde über die gesamte Dauer des Versuches streng eingehalten. Die verabreichte Tagesrate von 3000 Cal. pro Person wurde an Hand einer vorher bei normaler Kost durchschnittlich zugeführten Kalorienmenge errechnet. An Flüssigkeiten durften schwarzer Kaffee, Tee - beides ungesüßt - oder Wasser getrunken werden. Als Geschmackskorrigenz war Zitronensäure erlaubt. Die täglich aufgenommene Flüssigkeitsmenge wurde von den Versuchspersonen angegeben.

Tab. 2: Zusammensetzung der Formeldiät.

Vor Beginn der Ernährungsperiode mit kohlenhydratreicher Formeldiät und einer Linolsäurezufuhr von 8,8 g, nahmen die Versuchspersonen A, B, C eine fettreiche Formeldiät (60 % Fett, 25 % Kohlenhydrate, 15 % Eiweiß) mit 10,2 g Linolsäure pro Tag auf, nach dieser Ernährungsperiode eine konventionelle Kost mit etwa 40 % der Energie als Fett.

Die Versuchspersonen D, E, F erhielten vor der kohlenhydratreichen Formeldiät (6,1 g Linolsäure pro Tag) die konventionelle Kost und nach dieser Formeldiät die fettreiche Formeldiät (7,4 g Linolsäure pro Tag).

### 3. Blutentnahme

Die Blutentnahme aus einer Armvene wurde mit einem Zwischenraum von 3 bzw. 4 Tagen im laufenden Versuch vorgenommen. Zusätzlich kamen 2 Entnahmen nach Normalkost vor dem Beginn des Versuches und eine Entnahme nach Ende des Versuches ebenfalls unter Normalbedingungen dazu. Zu den Blutabnahmen hatten die Versuchspersonen mindestens 10 Stunden vorher nüchtern zu sein. Das entnommene Blut wurde zentrifugiert, das Blutserum abpipettiert und dann weiterverarbeitet.

### 4. Lipoidextraktion aus dem Blutserum

Für alle folgenden Untersuchungen wurden Lipoidextrakte verwendet, die nach einer Methode gewonnen wurden, die von W. M. Sperry (30) entwickelt worden ist. Dabei handelt es sich im einzelnen um die Extraktion der Lipide mit Hilfe eines Chloroform-Methanol-Gemisches im Verhältnis 2 : 1 und anschließende Reinigung mit wäßriger 2 %iger  $\text{CaCl}_2$ -Lösung. Es erfolgt eine Phasentrennung in eine untere lipoidhaltige Chloroformphase und eine obere Wasser-Methanolphase.

Die Chloroformphase wurde nach einer Standzeit von mindestens 24 Stunden im Rotationsverdampfer eingedampft, der Rückstand in 3 x 2 ml Chloroform gelöst und in Ampullen unter Zugabe von Stickstoff luftdicht verschmolzen. Frühere Versuche im selben Labor zeigten, daß sich auf diese Weise die Lipoidextrakte über einen längeren Zeitraum, gekühlt gelagert, ohne qualitative oder quantitative Verluste aufbewahren lassen.

### 5. Vorbereitungen zur Gaschromatographie

- a) Abtrennen der Cholesterinester
- b) Dünnschichtkontrollchromatographie
- c) Umestern
- d) Ausäthern
- e) Dünnschichtkontrollchromatographie

- f) Abtrennen der Methylester
- g) Dünnschichtkontrollchromatographie

Zu a) Abtrennen der Cholesterinester mit Hilfe der Säulenchromatographie

Dazu wurde folgende Vorrichtung verwendet:

Ein Glasrohr mit einer selbst hergestellten Auslaufspitze, ein Glasnagel und 6 - 7 Glaskügelchen (2 - 3 mm), Filtrierpapier. Der Glasnagel mit der darüberliegenden Schicht von Glaskügelchen und das darauf, dicht am Rand des Glasrohres anliegende Filtrierpapier, verhindert ein Abfließen der Kieselgelsäule. Das Kieselgel (6 g der Fa. Merck, Korngröße 0,05 - 0,20 mm) wurde in 5 - 10 ml Petroläther (Kp. 50° - 70°) aufgeschwemmt und nach oben ebenfalls durch ein Filtrierpapier das eng an der Wand des Glasrohres anliegt, abgedeckt. Die Kieselgelsäule wird noch mittels eines Glasstabes leicht komprimiert, ferner muß darauf geachtet werden, daß die Säule nicht trocken läuft oder es zur Luftblasenbildung in der Säule kommt.

Nun wird der Lipoidextrakt mit Petroläther aufgenommen und vorsichtig auf die Säule einpipettiert. Anschließend wird die Innenwand des Glasrohres nochmal mit Petroläther nachgewaschen damit keinerlei Substanz verlorengehen kann (31).

Tab. 3: Elutionsmittel und Fraktionen.

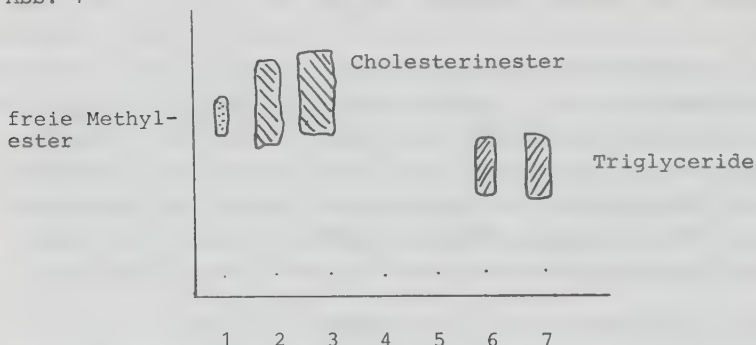
Zu b) Dünnschichtkontrollchromatographie

Zur Feststellung der Reinheit und in welchen Fraktionen sich die gesuchten Substanzen befinden, benutzt man eine mit Kieselgel G nach Stahl der Fa. Merck beschichtete Dünnschichtglasplatte von 20 x 20 cm Größe (39). Aus jeder Fraktion werden 0,05 - 0,1 ml mit jeweils eigener Pipette auf die Platte nebeneinander aufgetragen. Anschließend wird die Dünnschichtplatte in ein eckiges, verschließbares Glasgefäß gebracht, in dem sich das Laufmittel befindet. Es besteht aus einem

Gemisch von Petroläther, Methyläthylketon und Eisessig im Verhältnis von 95 : 4 : 1. Ist das Laufmittel an der oberen Begrenzung der Dünnschichtplatte angekommen, wird sie herausgenommen und im Abzug getrocknet. Die Chromatogramme werden mit 50 %iger Schwefelsäure besprüht und im elektrischen Ofen auf 120 - 160° C erhitzt (31).

Die jetzt sichtbar werdenden Laufpunkte geben an, welche Reagenzgläser die entsprechenden Fraktionen beinhalten; demzufolge werden sie in einem Rundkolben zusammengeschüttet.

Abb. 1



#### Zu c) Umesterung

Sie ist notwendig, da Fettsäuren im dampfförmigen Zustand die Neigung besitzen zu dimerisieren, was zu asymmetrischen Banden im Gaschromatogramm führt.

Die Lipoidfraktionen werden nach Eberhagen in 10 ml Methylacetat gelöst und mit 20 ml einer 5 %igen wasserfreien, methanolischen Salzsäure versetzt. Beim anschließenden Kochen im Rückfluß bei 70° C 1,5 - 2 Stunden, können Trübungen auftreten, die aber wieder verschwinden. Nach dem Erkalten der Lösung werden die Lipide durch Äther-Petroläther im Verhältnis 1 : 1 extrahiert, mit Aqua dest. neutralgewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Als Schutz vor Oxidation kann ein schwacher Stickstoffstrom über eine Gasleitungshaube zugeführt werden (31).

#### Zu d) Ausäthern

Bei alkalischer Reaktion können die Fettsäuren eines Lipoidgemisches auch als Seifen abgespalten werden. Damit kann man das wasserunlösliche Unverseifbare (z. B. Cholesterin) von den wasserlöslichen Fettsäuren durch Na- und K-Salze abtrennen.

Na- oder Kalilauge setzt sich unter Salzbildung mit den FS um. In das Reagenzglas wird ein kleiner Rührmagnet gegeben, dazu 1 ml Aqua dest. und 2 ml Äther-Petroläther im Verhältnis 1 : 1.

Anschließend wird mit Hilfe eines Motors, der den Magneten im Glas in Rotation versetzt, 3 Minuten das Gemisch gut durchgerührt.

Die obere Phase wird mit einer Saugpipette in ein Schliffzentrifugenglas gegeben.

Dieser Vorgang wiederholt sich insgesamt dreimal, wobei die obere Phase immer in das Schliffglas gegeben wird.

Dazu werden nun 1 ml Aqua dest. und 2 Tropfen gesättigte Na HCO<sub>3</sub> gegeben und man läßt wiederum ca. 3 Minuten rühren.

Das Wasser wird nun wieder abgesaugt und der pH-Wert kontrolliert. Er soll neutral sein, also wie das dazugegebene Aqua dest.. Ist das nicht der Fall, so muß erneut mit Aqua dest. gewaschen werden (bis zu 3mal) (39).

Beim Ausäthern ist besonders beim jeweiligen Absaugen darauf zu achten, daß keine Substanz verloren geht.

#### Zu e) Dünnschichtkontrollchromatogramm

Es dient als Bestätigung für die ordnungsgemäße Durchführung des Umesterns und Ausätherns. Technischer Ablauf wie unter Punkt b).

Zu f)    Abtrennen der Methylester mit Hilfe der Säulenchromatographie

Die eingeeengten Substanzen werden nochmal über eine Kieselgelsäule getrennt. Der technische Ablauf erfolgt wie unter Punkt a). Geändert wird die Menge des Kieselgels auf 4 g und der Vorgang der Elution.

Tab. 4: Elutionsmittel und Fraktionen.

Zu g)    Dünnschichtkontrollchromatographie

Technischer Ablauf wie unter Punkt b). Die Kontrolle dient zur Überprüfung, ob und wieviel an Substanz auf dem bisherigen Weg verloren gegangen ist. Daraus kann man auch ungefähr ersehen, wie stark die Verdünnung beim Einspritzen in den Gaschromatographen vorgenommen werden muß.

## 6. Gaschromatographische Analyse der Fettsäuremethylester

a) Die Trennung der Fettsäuremethylestergemische der Cholesterinester wurde in einem mit einem Argondetektor ausgerüsteten Gaschromatograph "Modell 840" der Fa. Packard Instrumente, USA, ausgeführt.

Die Säulenfüllung bestand aus 20 % Bernsteinsäure-Äthylen-Glycol-Polyester auf Chromosorb, modifiziert nach Craig und Murphy. Sie erlaubt eine fast vollständige Trennung der gesättigten und ungesättigten Fettsäuren gleicher Kettenlänge.

Das Methylestergemisch wurde eingedampft, anschließend in 1- bis 2 %igem Chloroform gelöst und dann mit Hilfe einer Mikroliterspritze der Fa. Hamilton, USA, eingespritzt.

Tab. 5: Technische Daten des Gaschromatographen Packard 840.

## b) Hydrierung

Durch die Hydrierung gelingt die eindeutige Zuordnung der ungesättigten Fettsäuren gleicher Kettenlängen und die Abtrennung der ungeradzahligen, verzweigt-kettigen Fettsäuren (34).

Die Fettsäuremethylester werden in ca. 5 ml Methanol gelöst. Dazu kommt als Katalysator eine Spatelspitze Palladiumkohle (Palladium auf Aktivkohle 10 % Pd). Nun wird unter einer Wasserstoffatmosphäre und ständigem Rühren mittels eines Rührmagneten, 2 Stunden hydriert. Die hydrierten Substanzen werden abpipettiert, durch einen Papier-Filter von der Palladiumkohle getrennt, eingedampft und somit wieder zum Einspritzen in den Gaschromatographen vorbereitet (31).

## c) Analyse der hydrierten Fettsäuremethylester

Technischer Ablauf wie unter Punkt a).

## 7. Auswertung der Chromatogramme

### a) qualitativ

Man zeichnet auf halblogarithmischem Millimeterpapier die Retentionsvolumina der leicht erkennbaren gesättigten Fettsäuren aus dem Chromatogramm der hydrierten Substanzen gegen die Anzahl ihrer C-Atome auf.

Nach James und Martin ergibt die Verbindungslinie zwischen den ermittelten Punkten eine Gerade, auf der auch die Punkte der anderen "peaks" der schwieriger identifizierbaren Fettsäuren liegen (35).

Bei den einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren legt man eine Gerade zwischen den klar erkennbaren 18 : 1 und 18 : 2 Fettsäuren, und führt dazu eine Parallele durch den 20 : 0 und 22 : 0 Punkt. Eberhagen gibt eine Tabelle an, mit deren Hilfe

man diese Werte und die dazugehörigen Retentionsvolumina ablesen, und somit die Banden identifizieren kann (31).

#### b) quantitativ

Zuerst werden die relativen Anteile der einzelnen hydrierten Substanzen ermittelt und zwar aus den Flächeninhalten der Dreiecke. Man multipliziert die Basis mit der Höhe des Dreiecks, gebildet aus der Grundlinie und den Wendepunkt tangenten der einzelnen "peaks".

Man setzt voraus, daß das Fettsäuremethylestergemisch im Gaschromatographen vollständig verdampft und somit alle Fettsäuren erkennbar aufgezeichnet werden. Deshalb kann man die Summe aller Flächeninhalte gleich 100 % setzen. Die Anteile der einzelnen Fettsäuren werden in Relativprozenten angegeben.

Ein Korrekturfaktor muß zusätzlich eingeführt werden, da die Bandenfläche eines Fettsäure-"peaks" der eingespritzten Menge zwar proportional ist, die Flächen gleicher Mengen verschiedener Fettsäuren in einem Chromatogramm aber nicht gleich sind (36). Die relativen Anteile der Fettsäuren nach Hydrierung werden auf die entsprechenden bereits identifizierten Fettsäuregruppen des unhydrierten Chromatogrammes übertragen und man berechnet die prozentuale Verteilung der Säuren gleicher Kettenlängen aber unterschiedlicher Anzahl der Doppelbindungen.

#### Anmerkung

Alle für die Untersuchung verwendeten Reagenzien waren von p.a.-Qualität. Besonderer Wert wurde auf die Fettfreiheit von Gläsern und Zubehör gelegt. Die Reinigung erfolgte in Chromschwefelsäure und anschließendem mehrfachen Auswaschen in Aqua dest.. Zur Vermeidung von Oxidation wurden bei sämtlichen Zwischenschritten die Substanzen mit Stickstoff abgedeckt.

## C. ERGEBNISSE

Alle Versuchspersonen vertrugen die Formeldiät nach der anfänglichen Umstellungszeit verhältnismäßig gut.

Von einigen Teilnehmern wurde über Meteorismus und Diarrhöen geklagt. Ein eindeutiger Leistungsabfall konnte nicht festgestellt werden, zumal während des Versuches kein Sport betrieben wurde. Eine Person stellte Müdigkeit und Abgeschlagenheit fest, während eine andere über Schlaflosigkeit berichtete.

Bis auf einen Teilnehmer hatten alle Versuchspersonen einen mehr oder weniger starken Gewichtsverlust aufzuweisen. Die Umstellung von fettreicher auf kohlenhydratreiche Nahrung bzw. umgekehrt verlief ohne Schwierigkeiten. Die Umstellung von Formeldiät auf Normalkost verlief ohne Zwischenfälle.

Die Versuchspersonen wurden in zwei Gruppen von je 3 Personen aufgeteilt. Eine Gruppe begann mit der kohlenhydratreichen Kost und wechselte nach drei Wochen auf fettreiche Formeldiät (Gruppe A; Abb. 4 - 7). Die zweite Gruppe lief den Versuch in umgekehrter Reihenfolge durch (Gruppe B; Abb. 8 - 11).

### 1. Linolsäure

- Gruppe A: Ausgeprägter Abfall der Linolsäure bei allen Versuchspersonen; ab dem 15. Tag stellt sich wieder ein mäßiger Anstieg ein.
- Gruppe B: Beim Wechsel von fettreicher Formeldiät auf kohlenhydratreiche Formeldiät ist kein so ausgeprägter Abfall der 18 : 2 Werte festzustellen. Sie bleiben, von starken Schwankungen abgesehen, im Durchschnitt etwa konstant.

## 2. Arachidonsäure

- Gruppe A: Minimaler Anstieg mit den höchsten Werten am 8. Tag, die sich gegen Ende des 1. Abschnittes wieder den Ausgangspunkten nähern.
- Gruppe B: Abgesehen von zwischenzeitlichen Schwankungen keine Veränderungen erkennbar.

## 3. Palmitinsäure

Gruppe A: Unregelmäßiger Anstieg mit den höchsten Werten am 15. Tag, darauf Abfall bis auf die Ausgangswerte.

Gruppe B: Starker Anstieg nach der Umstellung von fettreicher auf kohlenhydratreiche Kost mit anschließend schwankenden Werten, die in gegenüber den Ausgangspunkten erhöhten Werten, enden.

- Ölsäure: Große Schwankungen während der Formeldiät, die in Beziehung zum Versuch zu stehen scheinen.

#### D. DISKUSSION

Schon aus früheren Versuchen die mit Fettarmer Diät durchgeführt wurden, ist ein Abfall an Linolsäure festgestellt worden. Zöllner und Wolfram (25) hatten diese Ergebnisse in Einklang mit anderen Autoren (21, 22, 23) bestätigt. Ist dieser Abfall Ausdruck eines alimentären Linolsäuremangels oder aber liegt der Grund in der übermäßigen Zufuhr von Kohlenhydraten? Arbeiten einiger Autoren weisen darauf hin, daß unter kohlenhydratreicher Ernährung vermehrt gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren synthetisiert werden (20, 27, 38). Dadurch käme es zu einer relativen Verdrängung der Linolsäure, d. h. die Verminderung wäre nicht alimentär, sondern beruhe mehr auf einer Art Verdünnungseffekt.

Amerikanische Autoren haben Untersuchungen über den Einfluß der Kohlenhydrate auf den Lipidgehalt durchgeführt. Sie haben dabei Zusammenhänge und Verbindungen dargestellt, die von verschiedenen Einflüssen der Zuckerkonzentration bis zu geschlechtsgebundenen Differenzierungen im Lipidstoffwechsel reichen (23, 39, 40).

Im Vergleich zur kohlenhydratreichen Formeldiät beobachten wir bei fettreicher Formeldiät ebenso einen Abfall der 18:2 Werte. Daraus kann man entnehmen, daß bei diesen Versuchspersonen keine gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren vermehrt synthetisiert werden müssen, daß der Abfall bei kohlenhydratreicher Formeldiät nicht nur auf Grund eines Verdünnungseffektes erfolgt, sondern auch eine Mangelsubstitution mit Linolsäure, durch die Fettarmut der Nahrung bedingt, vorliegt.

Der geringe Anstieg, der sich nach dem 15. Tag einstellte, könnte sich damit erklären lassen, daß es sich um eine überschießende Reaktion handelt, die sich durch eine Mobilisierung des Linolsäuredepots ergibt.

Die Menge der zugeführten Linolsäure, 6,1 g bzw. 8,8 g pro Tag, reichte nicht aus, um den normalen Serumspiegel zu erhalten. Es ist aber auch kein Abfall der Arachidonsäure oder ein Anstieg der Eicosatriensäure festzustellen. Collins und Maynard nahmen als Kriterium eines EFA-Mangels den Abfall der Arachidonsäure und einen Anstieg der

Eicosatriensäure an. Sicher liegt ein Problem in der kurzen Dauer des Versuches, in der sich keine Mangelercheinungen ausbilden können, die dann erst auch in den Untersuchungsergebnissen deutliche Veränderungen ergeben würden.

Es ist bei allen Untersuchungen über Linolsäure ein schwieriges Problem, einen zuverlässigen Indikator für den Linolsäuremangel zu finden. Grundsätzlich scheinen auch individuelle Einflüsse der einzelnen Versuchspersonen eine Rolle zu spielen. Es kommen dabei die Körpergröße und -gewicht ebenso in Betracht, wie die Art der aufgenommenen Nahrung.

## E. ZUSAMMENFASSUNG

Sechs gesunde Versuchspersonen wurden mit einer Formeldiät ernährt. Sie wurden in zwei Gruppen zu je 3 Personen zusammengefaßt, von denen die eine Gruppe 3 Wochen lang kohlenhydratreiche Kost und anschließend 3 Wochen fettreiche Kost zu sich nahm.

Die andere Gruppe durchlief den Versuch in umgekehrter Reihenfolge. Die Linolsäure (6,1 g oder 8,8 g) wurde in Form von Safloröl pro Tag über den gesamten Versuch der Formeldiät zugesetzt. Die im 3- bzw. 4-Tage-Rhythmus abgenommenen Blutproben wurden gaschromatographisch analysiert.

Der Linolsäuregehalt nahm in den Lipoidfraktionen der Versuchspersonen ab, wobei eine stärkere Abnahme bei der Gruppe festzustellen war, die zuerst mit der kohlenhydratreichen Kost und der geringeren Linolsäurezufuhr begonnen hatte. Beim Wechsel von fettreicher auf kohlenhydratreiche Kost war kein so starker Abfall zu registrieren.

Offensichtlich war der Organismus trotz großer Linolsäurevorräte im Depotfett nicht in der Lage den Linolsäuremangel zu kompensieren. Klinisch faßbare Mangelerscheinungen wurden während der Versuchsdauer nicht festgestellt.

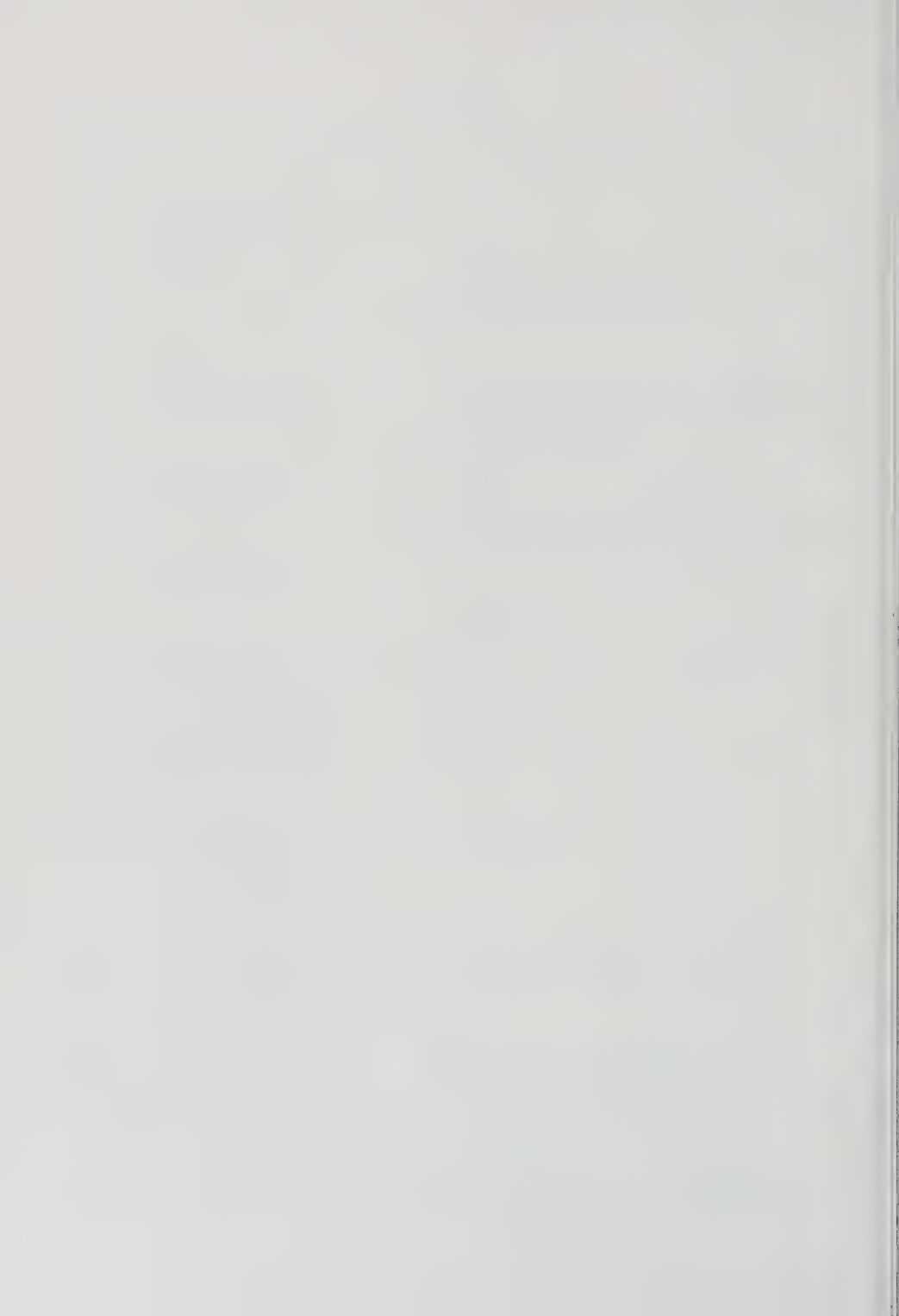
F. LITERATURVERZEICHNIS

- (1) Burr, G. O. and J. Biol. Chem. 82, (1929) 345  
M. M. Burr
- (2) Aaes, Physiol. Rev. 41, (1961) 1  
E. Jorgensen
- (3) Holman, R. T. J. Nutr. 70, (1960) 405
- (4) Collins, F. D., 2. internat. Sympos. Atherosclerosis  
R. F. Maynard Nov. 69 Chic. Ill. USA
- (5) Wolfram, G. Sympos. über Polyenfettsäuren  
München, Nov. 1970
- (6) Hansen, A. E., J. Nutr. 66, (1958) 565  
H. F. Wiese
- (7) Zöllner, N., Kli. Wo. Schr. 40, (1962) 267  
Wolfram, G.
- (8) Johnston, P. V. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. (N.Y.):  
96, (1957) 760
- (9) Hansen, A. E., J. Nutr. 66, (1958) 565  
M. E. Haggard,  
A. N. Boelsche,  
H. F. Wiese
- (10) Hansen, A. E., Pediatrics 31, (1963) 171  
H. F. Wiese et al.
- (11) Hagemann, D. D., Physiol. Rev. 40, (1960) 313  
Villée, C. C.
- (12) Hirsch, J., J. Clin. Invest. 43, (1964) 1776  
R. B. Goldrick
- (13) Klenk, E. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.  
302, (1955) 268

- (14) Leupold und  
Kremer Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 318,  
(1960) 215
- (15) Böhle, E. Münchn. Med. Wo. Schr. 106, (1964)  
1165
- (16) Wolfram, G. Vortrag in Homburg 1974
- (17) Holman, R. T. Nutr. Rev. 16, (1958) 33
- (18) Holman, R. T. Clin. Nutr. Vol. 8, (1960)
- (19) von Gröer, F. Biochem. Z. 93, (1919) 311
- (20) Hirsch, I.,  
I. W. Farquhar,  
E. H. Ahrens jr.  
M. L. Peterson,  
W. Stoffel Am. J. Clin. Nutr. 8, (1960) 499
- (21) Ahrens jr., E. H.,  
N. Spritz In: "Biochemical Problems of Lipids"  
Vol. 1, p. 304  
Amsterdam - London - N.Y.: Elsevier  
63
- (22) Fairhurst, B. J.,  
C. Waterhouse Am. J. Clin. Nutr. 13, (1963) 92
- (23) MacDonald, I.,  
Braithwaite Clin. Sci. 27, (1964) 23
- (24) Zöllner, N.,  
Wolfram, G. Kli. Wo. Schr. 44, (1966) 380
- (25) Zöllner, N.,  
G. Wolfram,  
W. Londong Z. ges. exp. Med. 140, (1966) 24
- (26) Holman, R. T. Proc. Soc. exp. Biol. 76, (1951)  
100
- (27) Nyrop, M. Lancet I, 914 (1956)

- (28) Seher, A. Naturwiss. Rundschau 15, (1962) 230
- (29) Shapiro, S. L.,  
L. Freedman Am. J. Physiol. 181, (1955) 441
- (30) Sperry, W. M. "Methods of Biochemical Analyses"  
Vol. 2, p. 83  
Interscience Publishers  
New York - London 1955
- (31) Zöllner, N.,  
D. Eberhagen "Untersuchungen und Bestimmungen der  
Lipoide im Blut"  
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen  
Heidelberg, 1965
- (32) Stahl, E. "Dünnschichtchromatographie"  
Springer-Verlag, Berlin, Göttingen,  
Heidelberg, 1962
- (33) Eberhagen, D. Fresenius' Z. f. analyt. Chemie 212,  
(1965) 230
- (34) Klenk, E.,  
D. Eberhagen Hoppe-Seylers Z. f. physiol. Ch. 328,  
(1962) 180
- (35) A. I. R. Martin Biochem. J. 50, (1952) 679
- (36) Hornig, E.,  
E. H. Ahrens jr.,  
S. R. Lipski,  
P. A. Turner,  
W. H. Goldwater J. Lipid Res. 5, (1964) 20
- (37) Lyon, J.,  
M. S. Masri,  
I. L. Chaikoff J. biol. Chem. 196, (1952) 25
- (38) Siperstein, M. D. Amer. J. Med. 26, (1959) 685
- (39) Anderson, J. T.,  
A. Keys et al. J. Nutr. 79, (1963) 349
- (40) MacDonald, J. Am. J. Clin. Nutr. 20, (1967) 185

A N H A N G   -   Tab. 1 - 7



Tab. 1    Alter, Geschlecht, Größe und Gewicht der Versuchspersonen  
vor und nach dem Versuch; Kalorienzufuhr

|    | Alter | Geschlecht | Größe<br>(cm) | Gewicht vor<br>(kg) | Gewicht nach<br>(kg) | Cal. |
|----|-------|------------|---------------|---------------------|----------------------|------|
| A. | 28    | männlich   | 181           | 81                  | 76,6                 | 3000 |
| B  | 24    | männlich   | 178           | 70                  | 68                   | 3000 |
| C  | 27    | männlich   | 178           | 75                  | 75,3                 | 3000 |
| D  | 25    | männlich   | 177           | 76                  | 73,4                 | 3000 |
| E  | 25    | männlich   | 174           | 70                  | 69                   | 3000 |
| F  | 23    | männlich   | 182           | 83                  | 77,9                 | 3000 |

Tab. 2. Zusammenfassung der Analysen der 3. und 4. Kapsel

|                        | Eiweiß | Fett | Kohlenhydrat | Cal.   | Chol. | Ges. Fe | ifach unges. | mehrf. unges. | p/S |
|------------------------|--------|------|--------------|--------|-------|---------|--------------|---------------|-----|
| 310 g Magermalchpulver | 108,5  | 3,1  | 161,2        | 1147,0 | ---   | 2,16    | 0,61         | 0,03          |     |
| 438,7 g Malto.<br>x    | ---    | ---  | 414,7        | 1697,8 | ---   | ---     | ---          | ---           |     |
| 10 g Butter            | 0,1    | 8,3  | ---          | 78,0   | 28    | 5,78    | 1,65         | 0,07          |     |
| 12,3 g Safloröl        | ---    | 8,3  | ---          | 78,0   | ---   | 0,9     | 0,9          | 5,7           |     |
| gesamt                 | 108,6  | 19,7 | 575,9        | 2999,8 | 28    | 8,84    | 3,16         | 5,8           | 0,7 |
| % Anteil               | 15     | 5    | 80           |        |       |         |              |               |     |

(= 6,10 g Linolsäure/Tg)

2 g NaCl/Tg

1 g KCl/Tg

590 mg Cholesterin/Tg

Tab. 3 Säulenchromatographische Trennung der Cholesterinester

|         | Elutionsmittel                                                | Fraktion                         |
|---------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------|
| Vorlauf | 15 - 20 ml<br>Petroläther                                     | zu verwerfen                     |
| 1. Lauf | 80 ml 5 % Äther<br>(4 ml Diäthyläther<br>ad 80 ml Petroläther | Cholesterinester<br>Triglyceride |

Tab. 4 Säulenchromatographische Trennung der Methylester

|         | Elutionsmittel                                                 | Fraktion             |
|---------|----------------------------------------------------------------|----------------------|
| Vorlauf | 15 - 20 ml<br>Petroläther                                      | zu verwerfen         |
| 1. Lauf | 40 ml 5 % Äther<br>(2 ml Diäthyläther<br>ad 38 ml Petroläther) | Fettsäuremethylester |
| 2. Lauf | 40 ml Chloroform                                               | freies Cholesterin   |

Tab. 5    Technische Daten des Gaschromatographen "Packard 840"

|                 |                    |
|-----------------|--------------------|
| Inlet           | 200° C             |
| Detektor        | 213° C - 215° C    |
| Säulentemp.     | 170° C             |
| Auslaßtemp.     | 210° C             |
| Trägergas       | Argon              |
| Gasdurchfluß    | 50 ml/min.         |
| Säulenabmessung | 180 x 0,4 cm       |
| Empfindlichkeit | $3 \times 10^{-9}$ |
| Papiervorschub  | 4 inch/h           |

Tab. 6 Werte (%) der Fettsäuren in den Cholesterinestern des Serums der Versuchspersonen

Gruppe A (Abb. 4 - 7)

|     | 14 : 0 | 16 : 0 | 16 : 1 | 18 : 0 | 18 : 2 | 20 : 4 |                |
|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
| D 1 | 5      | 23     | 2      | 8      | 37     | 9      |                |
| E 1 | 5      | 27     | 2      | 8      | 30     | 9      |                |
| F 1 | 6      | 27     | 5      | 8      | 30     | 8      |                |
| D 2 | 9      | 13     | 3      | 1      | 52     | 6      |                |
| E 2 | 7      | 14     | 4      | 1      | 45     | 11     |                |
| F 2 | 3      | 12     | 4      | 1      | 54     | 6      | Versuchsbeginn |
| D 3 | 11     | 12     | 3      | 3      | 40     | 8      |                |
| E 3 | 4      | 23     | 3      | 7      | 31     | 11     |                |
| F 3 | 4      | 20     | 5      | 4      | 38     | 8      |                |
| D 4 | 8      | 23     | 4      | 7      | 26     | 10     |                |
| E 4 | 13     | 15     | 6      | 4      | 25     | 15     |                |
| F 4 | 11     | 18     | 6      | 3      | 32     | 12     |                |
| D 5 | 13     | 23     | 4      | 7      | 25     | 9      |                |
| E 5 | 10     | 21     | 5      | 7      | 25     | 14     |                |
| F 5 | 9      | 24     | 6      | 5      | 29     | 9      |                |
| D 6 | 16     | 22     | 4      | 5      | 28     | 6      |                |
| E 6 | 10     | 29     | 3      | 17     | 17     | 10     |                |
| F 6 | 11     | 27     | 5      | 4      | 29     | 6      |                |
| D 7 | 10     | 14     | 6      | 2      | 40     | 10     |                |
| E 7 | 9      | 13     | 6      | 1      | 37     | 12     |                |
| F 7 | 10     | 14     | 7      | 1      | 40     | 6      |                |
| D 8 | 13     | 13     | 4      | 2      | 42     | 7      |                |
| E 8 | 14     | 14     | 4      | 4      | 33     | 12     |                |
| F 8 | 17     | 21     | 4      | 2      | 30     | 6      |                |

Tab. 7    Werte (%) der Fettsäuren in den Cholesterinestern des Serums der Versuchspersonen

Gruppe B (Abb. 8 - 11)

|      | 14 : 0             | 16 : 0 | 16 : 1 | 18 : 0 | 18 : 1 | 18 : 2 | 20 : 4 |              |
|------|--------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------------|
| A 9  | 6                  | 27     | 5      | 8      | 19     | 24     | 11     |              |
| B 9  | 11                 | 24     | 7      | 7      | 20     | 26     | 5      |              |
| C 9  | 10                 | 25     | 7      | 13     | 16     | 22     | 8      |              |
| A 10 | 16                 | 30     | 6      | 9      | 16     | 18     | 5      |              |
| B 10 | 11                 | 23     | 6      | 7      | 20     | 26     | 7      |              |
| C 10 | 4                  | 24     | 6      | 7      | 20     | 29     | 10     |              |
| A 11 | 9                  | 23     | 5      | 6      | 19     | 28     | 10     |              |
| B 11 | 9                  | 23     | 7      | 7      | 22     | 24     | 8      |              |
| C 11 | 8                  | 18     | 7      | 4      | 23     | 30     | 10     |              |
| A 12 | 18                 | 24     | 5      | 4      | 21     | 16     | 12     |              |
| B 12 | 11                 | 16     | 8      | 2      | 21     | 32     | 10     |              |
| C 12 | 9                  | 16     | 9      | 3      | 21     | 32     | 10     |              |
| A 13 | 12                 | 14     | 4      | 1      | 21     | 38     | 10     |              |
| B 13 | 13                 | 24     | 6      | 3      | 30     | 20     | 4      |              |
| C 13 | 12                 | 16     | 7      | 3      | 23     | 31     | 8      |              |
| A 14 | 15                 | 17     | 6      | 23     | 11     | 19     | 9      |              |
| B 14 | 15                 | 17     | 8      | 2      | 23     | 31     | 4      |              |
| C 14 | 12                 | 20     | 4      | 17     | 17     | 24     | 6      | Versuchsende |
| A 15 | 9                  | 26     | 5      | 5      | 17     | 31     | 7      |              |
| B 15 | 9                  | 23     | 4      | 6      | 19     | 33     | 6      |              |
| C 15 | 6                  | 21     | 4      | 6      | 16     | 37     | 10     |              |
| A 16 | keine Blutentnahme |        |        |        |        |        |        |              |
| B 16 | 11                 | 14     | 7      | 1      | 21     | 42     | 4      |              |
| C 16 | 7                  | 11     | 9      | 1      | 15     | 51     | 10     |              |

A B B I L D U N G E N (2 - 11)



Abb. 3 Gewichtskurve

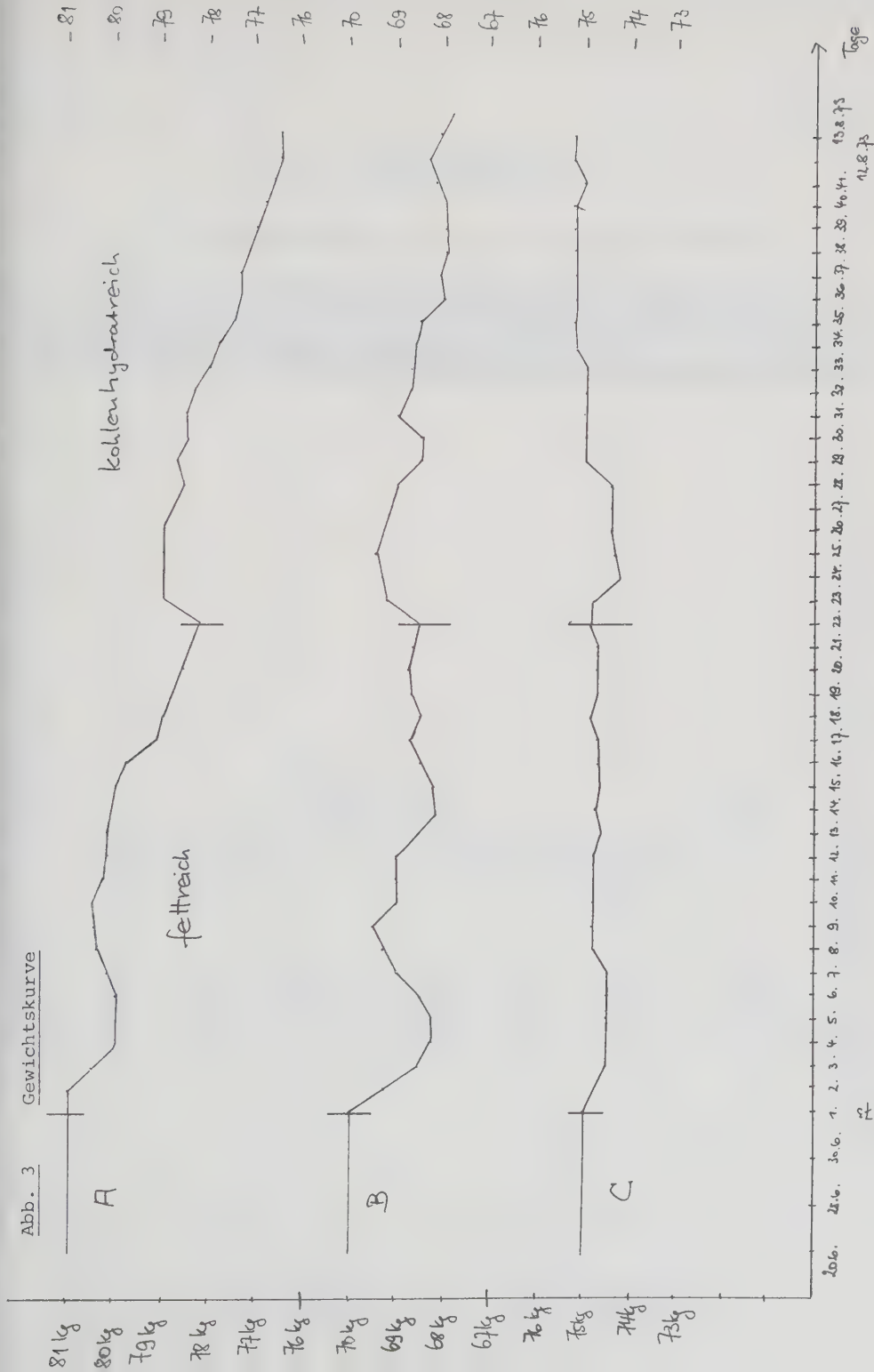
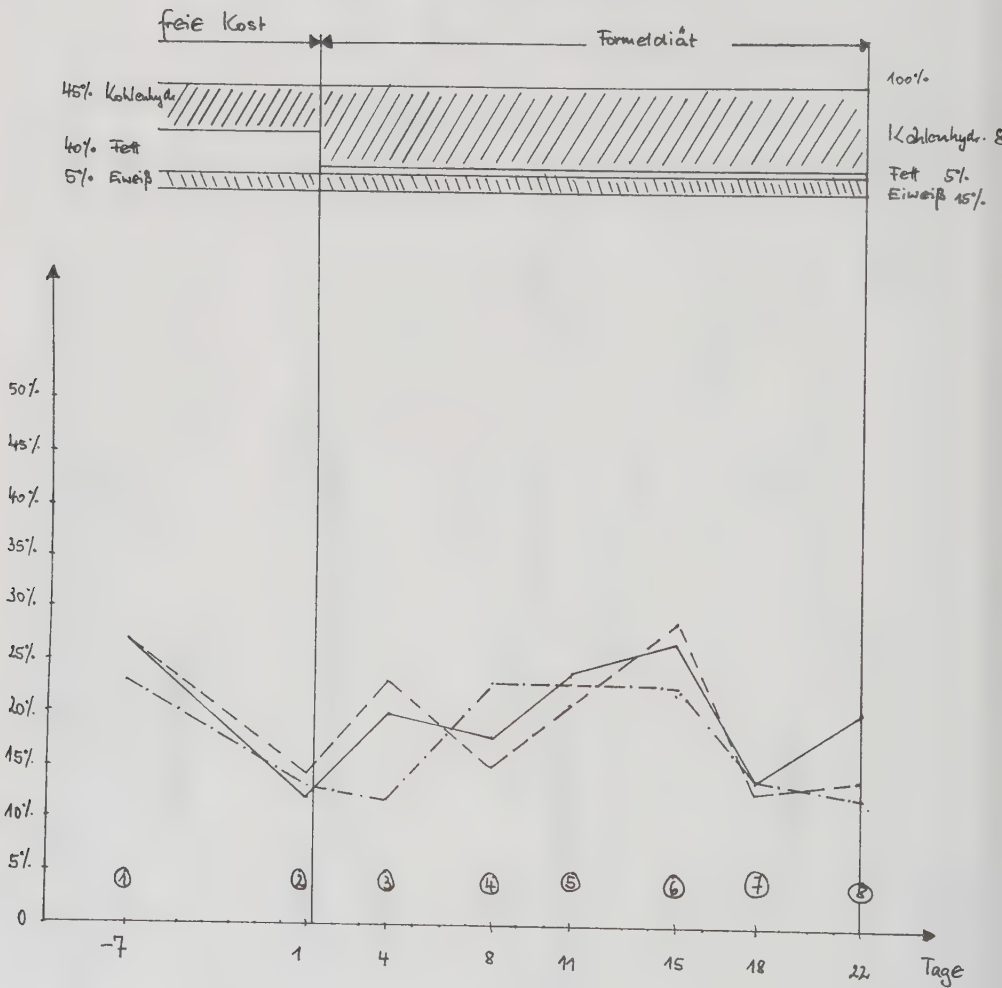


Abb. 4 : Gruppe A

Palmitinsäure 16:0



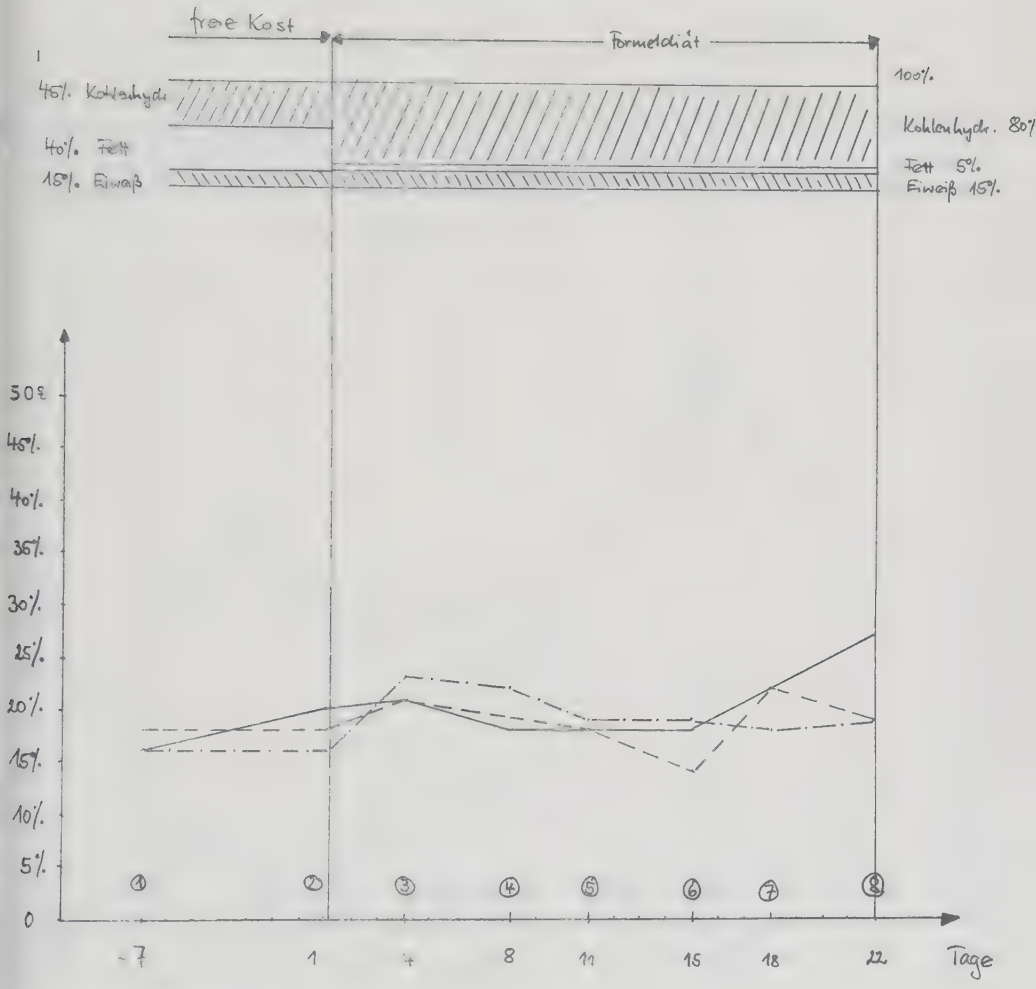
E = — — — — —

F = —————

D = — . — . — . —

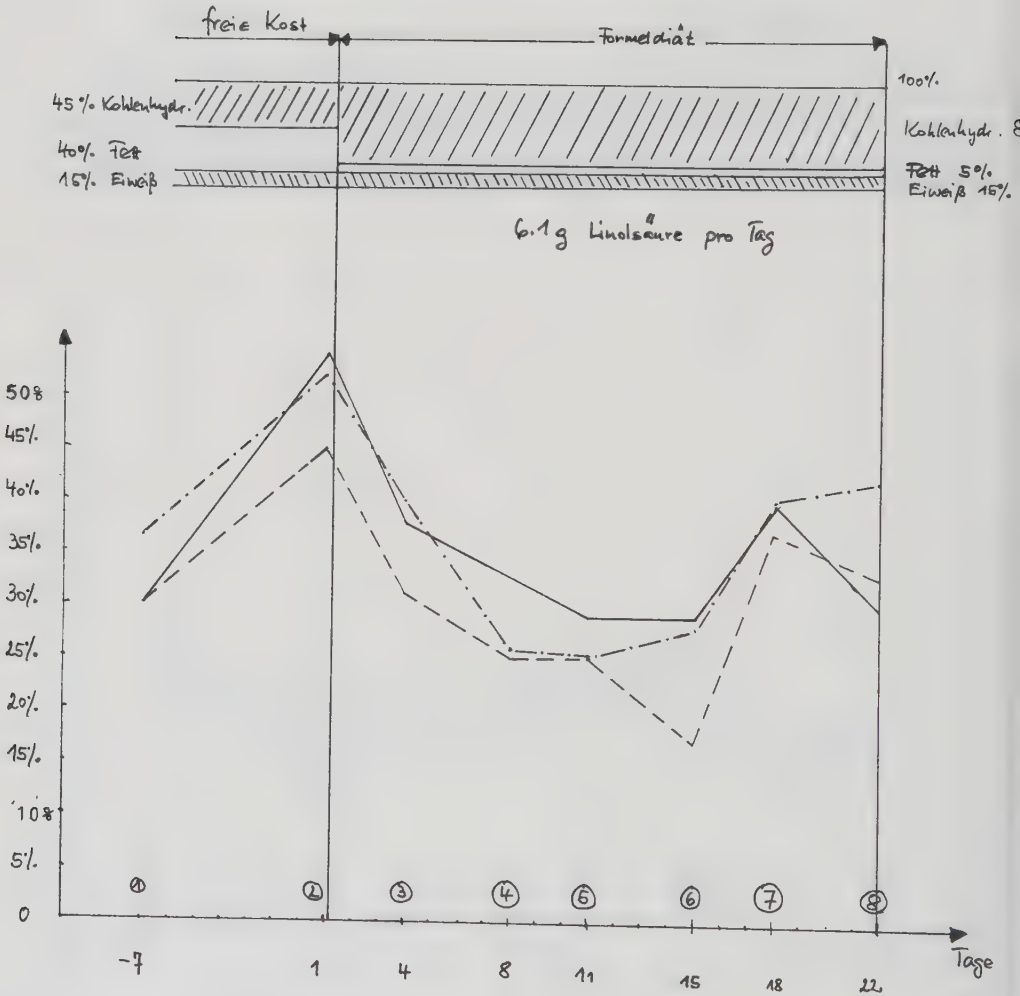
O = Blutentnahme

„  
Ölsäure 18 : 1



E = \_\_\_\_\_  
 F = \_\_\_\_\_  
 D = \_\_\_\_\_  
 O = Blutentnahme

Linolsäure 18 : 2



E = ———

F = ———

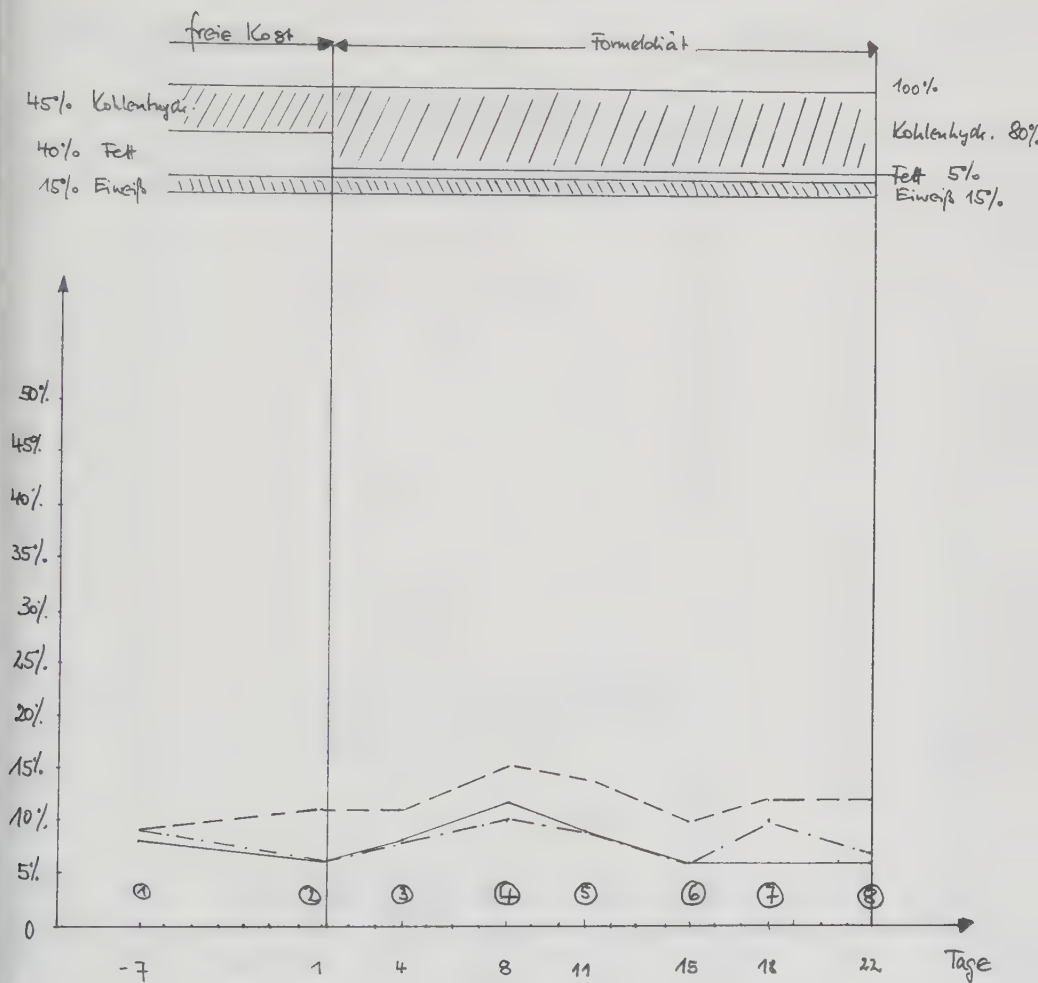
D = — . — . —

O = Blutentnahme

Abb. 7

Gruppe A

# Arachidonsäure 20 : 4



E = — — — —

F = — — — —

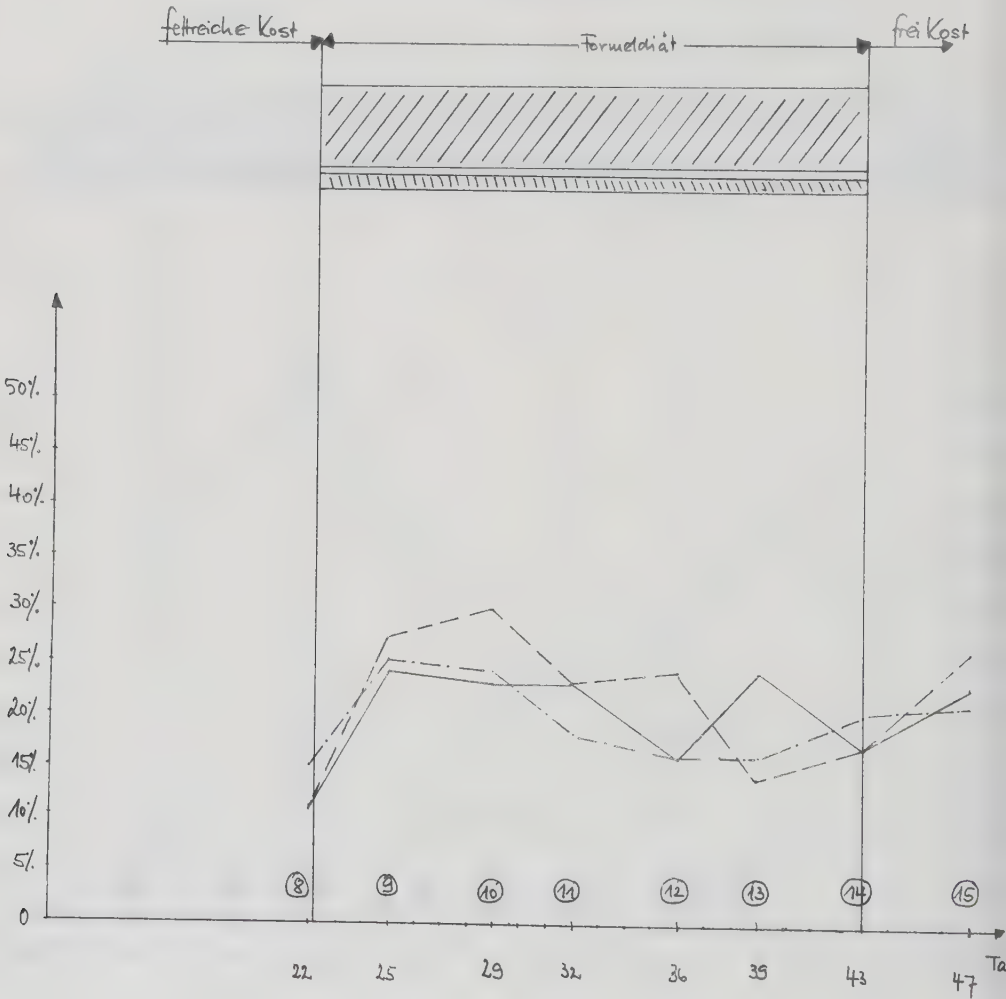
D = — — — —

O = Blutentnahme

Abb. 8

Gruppe 3

Palmitinsäure 16 : 0



A = — — — — —

B = —————

C = — . — . — . —

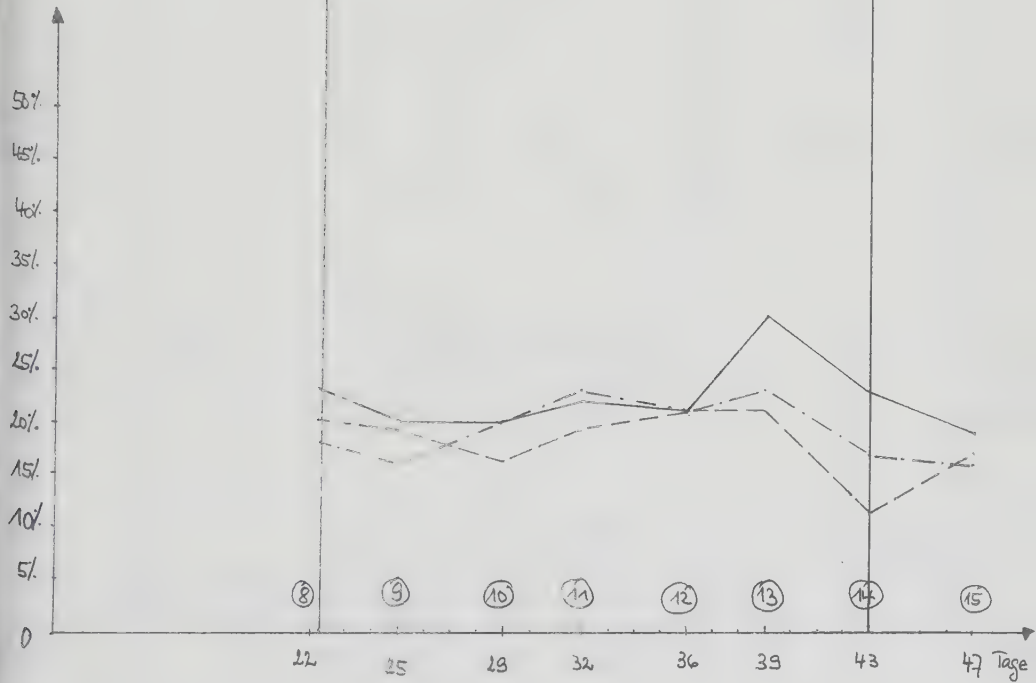
O = Blutentnahme

Abb. 9

Gruppe B

Ölsäure 18 : 1

fettreiche Kost      Formeldiät      freie Kost



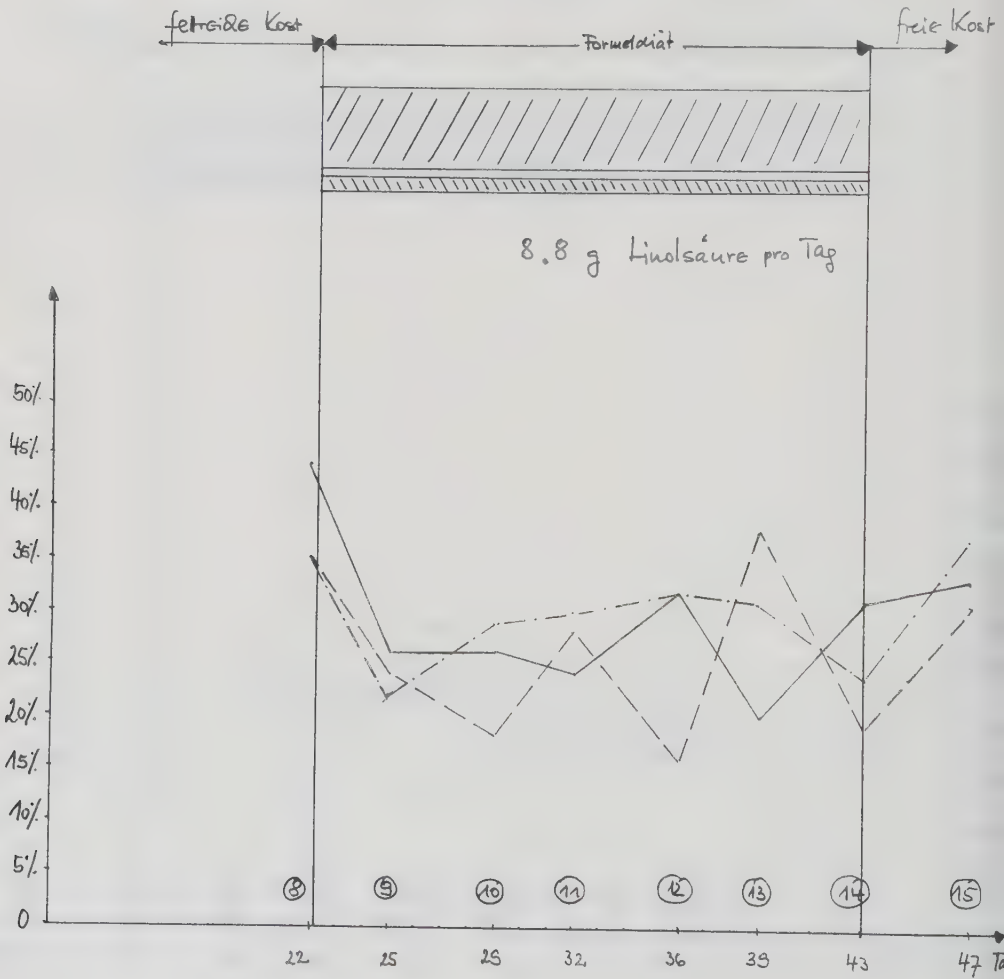
A = ———

B = ———

C = ———

O = Blutentnahme

Linolsäure 18:2



A = ————

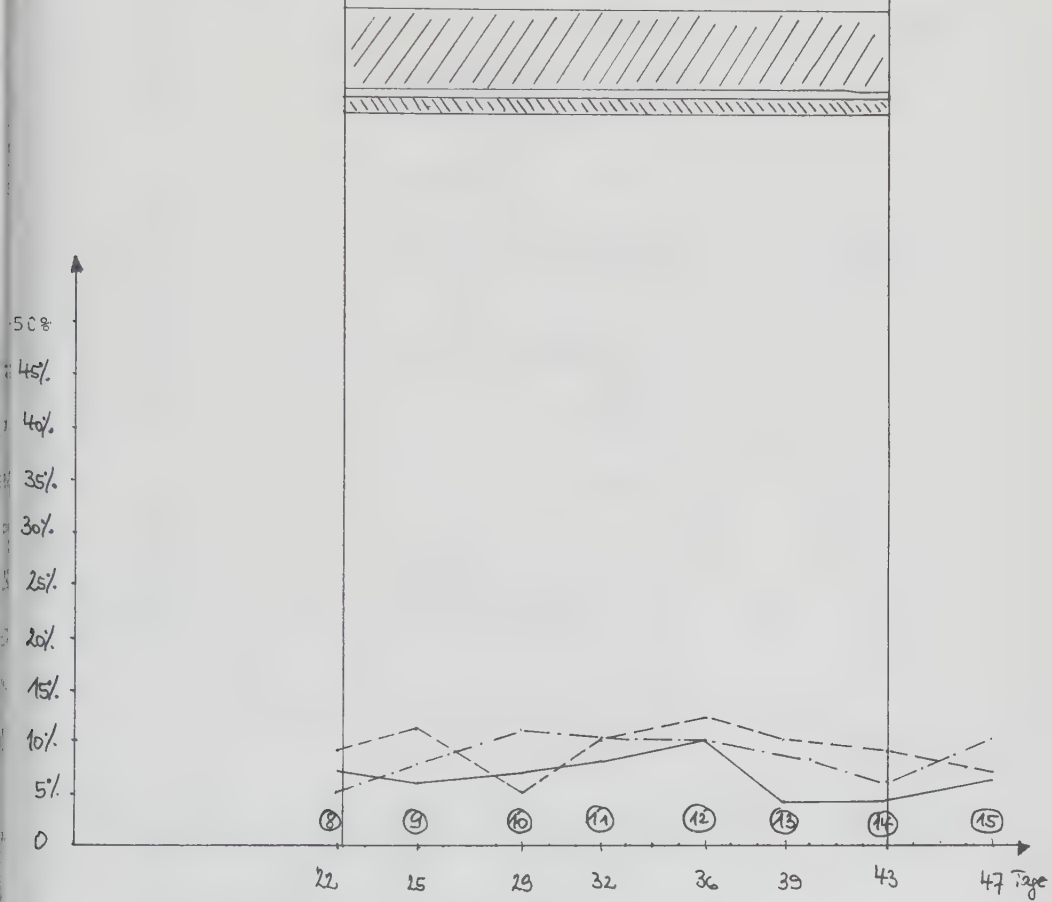
B = ————

C = — . — . — .

O = Blutentnahme

Arachidonsäure 20:4

fettriche Kost      Formeldiät      freie Kost



A = - - - - -

B = —————

C = - . - . - . -

O = Blutentnahme

Dieter Kröll  
Egmontstraße 5  
8000 München 40

#### LEBENS LAUF

|                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Name                  | Dieter Kröll                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| Herkunft              | Eltern: Karl Kröll, Kaufmann;<br>Anna Kröll, geb. Schlüter                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| Geburt                | 17. Oktober 1946 in München                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Bildungsweg           | 1953 Eintritt in die Volksschule Milbertshofen in München-Nord, Schleißheimerstraße.<br><br>1955 Wechsel in die "Bayern-Schule" an der Hiltenspergerstraße in München-Schwabing wegen Umzug der Eltern.<br><br>1957 Übertritt aus der 4. Klasse in das Gisela-Gymnasium in München.<br><br>1968 Abitur an der gleichen Anstalt abgelegt. |
| Hochschule            | Ab Wintersemester 1968/69 an der Ludwigs-Maximilians-Universität immatrikuliert.<br><br>Zuerst belegte ich ein Semester Naturwissenschaften, ab Sommersemester 1969 war ich in der Zahnmedizin eingeschrieben.<br><br>Beendigung des Studiums mit dem Staatsexamen am 5. Februar 1975.                                                   |
| Beruflicher Werdegang | Ab 5. April 1975 bei der Bundeswehr in Dornstadt bei Ulm den Wehrdienst als Stabsarzt abgeleistet. Wehrdienstende am 18. 5. 1976.<br><br>Seit 1. 6. 1976 in einer kassenzahnärztlichen Praxis in München als Assistenz-Zahnarzt tätig.                                                                                                   |

München, den 15. 6. 1976







